

EasySep™小鼠 CD4+CD25+ 调节性T细胞分选试剂盒II

可处理 1 x 10⁹ 细胞

产品号 #18783
#18783RF RoboSep™

正选

文档号 #1000032506 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

产品介绍

使用简单的两步法从小鼠脾细胞或其他单细胞悬液中分离CD4+CD25+细胞。当使用其他类型组织来源的单细胞悬液时, 该试剂盒可能需要优化。

- 操作简单、快捷, 且无需分离柱
- 纯度高达93%

首先, 使用EasySep™小鼠CD4+ T细胞分选抗体混合物(产品号 #19852C.1)中识别特定细胞表面标志物的抗体来预富集CD4+ T细胞。然后, 使用包含识别CD25的EasySep™小鼠CD25调节性T细胞正选抗体混合物(产品号 #18782C)标记CD25+细胞。EasySep™分选抗体混合物将被标记的细胞与磁珠相连。这些细胞可使用EasySep™磁极无柱分选。分选后的细胞可立即用于下游应用, 例如流式细胞术、细胞培养或DNA/RNA提取。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™小鼠CD4+ T细胞分选抗体混合物	19852C.1	1 x 0.5 mL	2 - 8°C 储存。 勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在含0.1% BSA的PBS中的单克隆抗体混合物。
EasySep™小鼠CD25调节性T细胞正选抗体混合物	18782C	1 x 0.5 mL	2 - 8°C 储存。 勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在含0.1% BSA和< 0.1%叠氮化钠的PBS中的单克隆抗体混合物。
EasySep™ PE分选抗体混合物	18151	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存。 勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在PBS中的单克隆抗体混合物。
EasySep™ Streptavidin RapidSpheres™ 50001磁珠	50001	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存。 勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在PBS中的磁珠悬浮液。
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50100磁珠	50100	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存。 勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在水中的磁珠悬浮液。
EasySep™小鼠FcR阻断剂	18731	1 x 0.5 mL	2 - 8°C 储存。 勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在含0.1% BSA和< 0.1%叠氮化钠的PBS中的单克隆抗体混合物。

BSA - 牛血清白蛋白; PBS - 磷酸盐缓冲液

试剂盒组分可在室温(15 - 25°C)下运输, 但应按照上述说明进行储存。

样本制备

脾脏

在含有2%胎牛血清(FBS)的PBS或Hanks平衡盐溶液中机械解离脾脏。使用70 μm尼龙滤筛(如产品号 #27260)过滤细胞悬液, 以去除聚团和碎片。以 300 x g 离心10分钟, 并使用推荐缓冲液中以1 x 10⁸ 有核细胞/mL重悬细胞。

制备用于分选的样本时, 不建议使用氯化铵处理样本。

推荐缓冲液

EasySep™缓冲液(产品号 #20144), RoboSep™缓冲液(产品号 #20104)或含有2% FBS和1mM EDTA的PBS。缓冲液应该不含Ca⁺⁺和Mg⁺⁺。

使用指南 – EasySep™手动实验流程

请参阅第1页了解样本制备和推荐缓冲液。有关每种磁极的详细使用方法，请参阅表1与表2。

表1. EasySep™小鼠 CD4+CD25+ 调节性T细胞分选试剂盒II操作流程

		EASYSEPTM 磁极	
步骤	说明	 EasySep™ (产品号 #18000)	 “The Big Easy” (产品号 #18001)
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.5 - 2 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 1 - 8 mL
2	将样本添加到所需的试管中。	5 mL (12 x 75 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号#38007)	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
3	将CD4+ T细胞分选抗体混合物添加到样本中。 注意: 不要涡旋抗体混合物。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育10分钟	室温孵育10分钟
4	涡旋Streptavidin RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
5	将Streptavidin RapidSpheres™磁珠加到样本中。	75 µL/mL 样本 注: 该试剂盒包含两种不同的磁珠 确保此步骤中使用Streptavidin RapidSpheres™磁珠	75 µL/mL 样本 注: 该试剂盒包含两种不同的磁珠 确保此步骤中使用Streptavidin RapidSpheres™磁珠
	混匀并孵育。	室温孵育2.5分钟	室温孵育2.5分钟
6	添加推荐缓冲液，将样本定容至指定体积。 通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	定容至2.5 mL	· 若样本 ≤ 4 mL，定容至5 mL · 若样本 ≥ 4 mL，定容至10 mL
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育2.5分钟	室温孵育2.5分钟
7	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*， 倾倒入富集的细胞悬液至一个新的试管中。	使用新的5 mL流式管	使用新的14 mL流式管
8	从磁极中取出试管，然后将新试管（不加盖）放入磁极中孵育。	室温孵育2.5分钟	室温孵育2.5分钟
9	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*， 倾倒入富集的细胞悬液至一个新的试管中。	使用新的5 mL流式管	使用新的14 mL流式管
10	离心预富集的细胞。	在室温下以 200 x g 离心10分钟	在室温下以 200 x g 离心10分钟
	弃去上清液并按指定体积重悬细胞沉淀。	重悬于0.5 mL	重悬于1 mL
继续至下一页。		继续至下一页	继续至下一页

		EASYSEPTM 磁极	
步骤	说明 (续)	 EasySep™ (产品号 #18000)	 “The Big Easy” (产品号 #18001)
11	在样本中加入FcR阻断剂。	25 µL	50 µL
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
12	在样本中加入CD25调节性T细胞正选抗体混合物。 注意：不要涡旋抗体混合物。	25 µL	50 µL
	混匀并孵育。	室温孵育10分钟	室温孵育10分钟
13	在样本中加入PE分选抗体混合物。 注意：不要涡旋抗体混合物。	10 µL	20 µL
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
14	涡旋Dextran RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
15	将Dextran RapidSpheres™磁珠加到样本中。	30 µL 注：该试剂盒包含两种不同的磁珠 确保此步骤中使用Dextran RapidSpheres™磁珠	60 µL 注：该试剂盒包含两种不同的磁珠 确保此步骤中使用Dextran RapidSpheres™磁珠
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
16	添加推荐缓冲液，将样本定容至指定体积。 通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	定容至2.5 mL	· 若样本 ≤ 4 mL，定容至5 mL · 若样本 ≥ 4 mL，定容至 10 mL
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
17	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*， 倾倒下清液。	弃去上清液	弃去上清液
18	重复以上步骤。	重复三次步骤16和17 (总共进行4次5分钟的分选)	重复三次步骤16和17 (总共进行4次5分钟的分选)
19	将细胞重悬于所需培养基中。 请确保从试管壁上收集细胞。	分选后的细胞可立即用于下游应用	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

*保持磁极和流式管倒置 2 - 3秒，然后恢复直立。不要摇晃或擦拭掉仍可能挂在管口的任何液滴。

表2. EasySep™小鼠 CD4+ CD25+ 调节性T细胞分选试剂盒II操作流程

		EASYSEP™ 磁极	
步骤	说明	EasyEights™ (产品号 #18103)	
		5 mL 流式管	14 mL 流式管
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 1 - 1.5 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 1.5 - 8 mL
2	将样本添加到所需的试管中。	5 mL (12 x 75 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号#38007)	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
3	将CD4+ T细胞分选抗体混合物添加到样本中。 注意: 不要涡旋抗体混合物。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育10分钟	室温孵育10分钟
4	涡旋Streptavidin RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒
5	将Streptavidin RapidSpheres™磁珠加到样本中。	75 µL/mL 样本 注: 该试剂盒包含两种不同的磁珠 确保此步骤中使用Streptavidin RapidSpheres™磁珠	75 µL/mL 样本 注: 该试剂盒包含两种不同的磁珠 确保此步骤中使用Streptavidin RapidSpheres™磁珠
	混匀并孵育。	室温孵育2.5分钟	室温孵育2.5分钟
6	添加推荐缓冲液，将样本定容至指定体积。 通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	定容至2.5 mL	· 若样本 < 4 mL, 定容至 5 mL · 若样本 ≥ 4 mL, 定容至 10 mL
	将试管 (不加盖) 放入磁极中并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
7	小心地吸出** (切勿倾倒) 富集的细胞悬液至一个新的试管。	使用新的5 mL流式管	使用新的14 mL流式管
8	离心预富集的细胞。	在室温下以200 x g离心10分钟	在室温下以200 x g离心10分钟
	弃去上清液并按指定体积重悬细胞沉淀。	重悬于0.5 mL	重悬于1 mL
9	在样本中加入FcR阻断剂。	25 µL	50 µL
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
10	在样本中加入CD25调节性T细胞正选抗体混合物。 注意: 不要涡旋抗体混合物。	25 µL	50 µL
	混匀并孵育。	室温孵育10分钟	室温孵育10分钟
11	在样本中加入PE分选抗体混合物。 注意: 不要涡旋抗体混合物。	10 µL	20 µL
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
继续至下一页。		继续至下一页	继续至下一页

步骤	说明	EasyEights™ (产品号 #18103)	
		5 mL 流式管	14 mL 流式管
12	涡旋Dextran RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
13	将Dextran RapidSpheres™磁珠加到样本中。	30 µL 注：该试剂盒包含两种不同的磁珠 确保此步骤中使用Dextran RapidSpheres™磁珠	60 µL 注：该试剂盒包含两种不同的磁珠 确保此步骤中使用Dextran RapidSpheres™磁珠
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
14	添加推荐缓冲液，将样本定容至指定体积。 通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	定容至2.5 mL	· 若样本 < 4 mL，定容至 5 mL · 若样本 ≥ 4 mL，定容至 10 mL
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育15分钟	室温孵育15分钟
15	小心地吸取**（切勿倾倒）上清液。 从磁极中取出含有目的细胞的试管。	弃去上清液	弃去上清液
16	重复以上步骤。	重复两次步骤14和15 (总共进行3次15分钟的分选)	重复两次步骤14和15 (总共进行3次15分钟的分选)
17	将细胞重悬于所需培养基中。 请确保从试管壁上收集细胞。	分选后的细胞可立即用于下游应用	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

** 使用一个移液管一次收集所有的上清液（例如，对于EasyEights™ 5 mL流式管，使用2 mL血清移液管 [产品号 #38002]；对于EasyEights™ 14 mL流式管，使用10 mL血清移液管[产品号 #38004]）。

使用指南 – RoboSep™ 全自动实验流程

请参阅第1页了解样本制备和推荐缓冲液。有关RoboSep™的详细使用说明，请参阅表3。

表3. RoboSep™小鼠 CD4+CD25+ 调节性T细胞分选试剂盒II操作流程

步骤	说明	RoboSep™ (产品号 #21000)	
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 1 - 8 mL	
2	将样本添加到所需的试管中。	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)	
3	选择实验程序。	小鼠CD4+ T细胞预富集 18783 (19852)	
4	涡旋Streptavidin RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	
5	加载转盘。	根据屏幕上的提示操作 注: 该试剂盒包含两种不同的磁珠 确保此步骤中使用Streptavidin RapidSpheres™磁珠	
	启动实验程序。	按下绿色的“Run (运行)”按钮	
6	运行完成后，卸载转盘。	取出含有目的细胞的试管	
7	离心预富集的细胞。	在室温下以200 x g离心10分钟	
	弃去上清液并按指定体积重悬细胞沉淀。	重悬于1 mL	
8	将样本添加到新的试管中。	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)	
9	在样本中加入FcR阻断剂。	50 µL	
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	
10	选择实验程序。	小鼠CD25调节性T细胞正选 18783 (18782)	
11	涡旋Dextran RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	
12	加载转盘。	根据屏幕上的提示操作 注: 该试剂盒包含两种不同的磁珠 确保此步骤中使用Dextran RapidSpheres™磁珠	
	启动实验程序。	按下绿色的“Run (运行)”按钮	
13	运行完成后，卸载转盘。取出装有目的细胞的试管，然后将细胞重悬于所需培养基中。请确保从试管壁上收集细胞。	分选后的细胞可立即用于下游应用	

RT - 室温 (15 - 25°C)

注意事项和提示

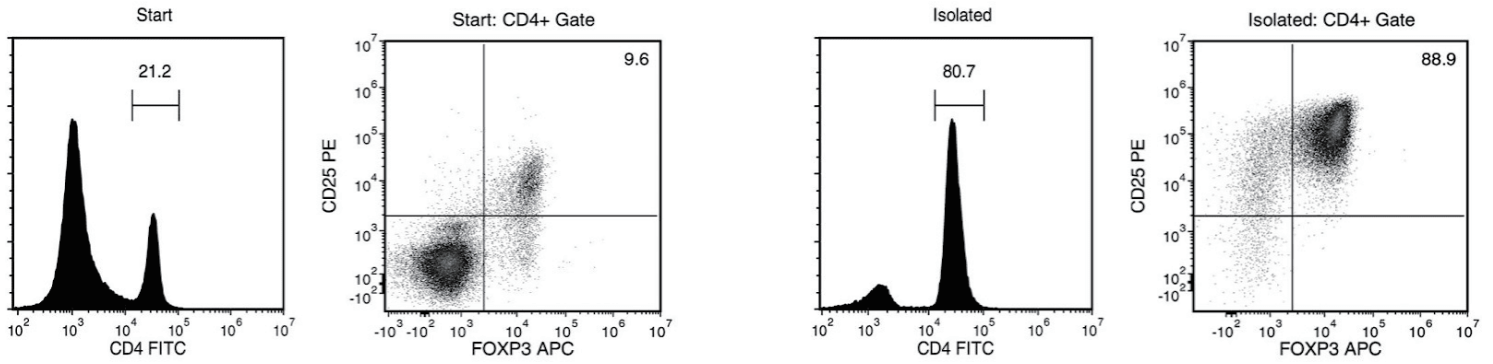
纯度评估

要通过流式细胞术评估CD4+CD25+细胞的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗小鼠CD4抗体，克隆RM4-4（产品号 #60029），或者
- 抗小鼠CD4抗体，克隆RM4-5（产品号 #60017），以及
- 抗小鼠FOXP3抗体，克隆FJK-16s（可选）

注：正选的CD25+细胞已带有PE标记，因此可通过流式细胞术直接评估其纯度。

实验数据



起始样本为小鼠脾细胞，分选后的细胞中调节性T细胞含量（CD4+CD25+FOXP3+）通常为70 - 93%。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞纯度分别为2%和72%。

产品仅供研究使用。除非另行说明，不可用于人或动物的诊断或治疗。若想了解更多关于产品质量和合规的信息，请访问WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE。

版权所有© STEMCELL Technologies Inc. 2025。保留一切权利，包括图形和图像。STEMCELL Technologies及其设计及徽标，以及Scientists Helping Scientists、EasySep、RoboSep和RapidSpheres均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。其它商标为各自持有人的产权。STEMCELL尽力确保STEMCELL及其供应商提供的信息正确无误，对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。